Titel der Arbeit

Der Einfluß von Aristolochiasäure auf die Infektionsresistenz bei experimenteller Meerschweinchen-Salmonellose

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Klaus Konrad

Saarbrücken

1973

Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie der
Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

Direktor: Prof.Dr.med.,Dr.phil.,Dipl.Chem. W. ZIMMERMANN

Titel der Arbeit

Der Einfluss von Aristolochiasäure auf die Infektionsresistenz bei experimenteller Meerschweinchen-Salmonellose

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

Homburg 1973

vorgelegt von

Klaus KONRAD

geb. am 16. 12. 1946 in Homburg

Dekan: Prof. Dr. med. H. KULENKAMPFF

Referent: Prof.Dr.med.,Dr.phil.,Dipl.Chem.W.ZIMMERMANN

Tag der mündlichen Promotionsprüfung: 12. 12. 1973

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung:
12.12.1973

INHALTSVERZEICHNIS 1

1. EINLEITUNG UND SCHRIFTTUM 2

1.1. ARISTOLOCHIASÄURE UND INFEKTIONSRESISTENZ
1.2. STEROIDE UND INFEKTIONSRESISTENZ 6
1.3. FRAGESTELLUNG 10

2. METHODIK UND MATERIAL 12

2.1. TIERVERSUCHE 12
2.1.1. Vorversuch 12
2.1.1.1. Herstellen der Infektionslösung 12
2.1.1.2. Applikation der AS und Verträglichkeit 14
2.1.2. Hauptversuch 14
2.1.2.1. Sammlung des Urins 15
2.1.2.2. Sammlung des Blutes 16
2.1.2.3. Infektionskontrolle 16
2.1.2.4. Temperaturkontrolle 17
2.1.2.5. Gewichtskontrolle 17
2.2. BIOCHEMISCHE ANALYSEN 17
2.3. STATISTISCHE AUSWERTUNG DER ANALYSENDATEN 18

3. ERGEBNISSE UND UNTERSUCHUNG 19
3.1. ANALYSENDATEN 19
3.2. ERGEBNISSE DER STATISTISCHEN AUSWERTUNG 36

4. DISKUSSION UND SCHLUSSFOLGERUNG 43

5. ZUSAMMENFASSUNG 50

6. LITERATURVERZEICHNIS 52

7. ANHANG 61

1. EINLEITUNG UND SCHRIFTTUM

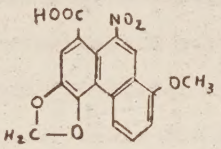
1.1. ARISTOLOCHIASÄURE UND INFEKTIONSRESISTENZ

Die Aristolochia clematitis fällt schon durch ihren Namen auf. Er stammt aus dem Griechischen und bedeutet "ariston" das Beste, "locheía" das Gebären, die Geburt. Auch der deutsche Name Osterluzei scheint ungewöhnlich. Er soll eine Verballhornisierung des botanischen Namens sein. Schon im Altertum wandte Hippokrates (460 - 377 v. Chr.) die Pflanze bei Brustfellentzündungen an (1,2). Auch Paracelsus (1494 - 1541) verordnete Aristolochia als Mittel gegen Krebs (3). Wie viele andere Pflanzen verdankt auch die Osterluzei der Homöopathie, daß sie nicht vergessen wurde. Hier steht die Wirkung auf die weiblichen Geschlechtsorgane im Vordergrund (4). Man kann sagen, daß die Aristolochia vom Altertum, durch das Mittelalter hindurch, bis in die Neuzeit nicht nur zum Arzneimittelschatz der Volks- sondern auch der klassischen Medizin gehörte.

Anfang des 19. Jahrhunderts wurde erstmalig der Versuch unternommen, den Wirkstoff der Aristolochia zu isolieren (12-21). Aber erst PAILER und Mitarbeiter gelang es 1955/1957 (5-8) die Konstitution einer der hervorstechendsten Substanzen von Aristolochia clematitis, nämlich

der Aristolochiasäure (AS), endgültig sicherzustellen. Zur Chemie dieser Substanz sei gesagt, daß es sich um einen in der Natur selten vorkommenden Stoff handelt, in dem der Stickstoff als Nitrogruppe vorliegt. Die AS ist eine Nitrophenantren - carbonsäure mit der chemischen Bezeichnung: 3,4-Methylendioxy-8-methoxy-10-nitrophenantren-1-carbonsäure.

Strukturformel:



Die Untersuchungsergebnisse über den Wirkungsmechanismus ergaben praezise Vorstellungen (22,23). Anfangs hatte die Nitrogruppe in der AS die Erinnerung an den zweiten pflanzlichen Naturstoff mit einer Nitrogruppe wachgerufen, an das Chloramphenicol. Aber es stellte sich bald heraus, daß die AS kein Breitbandantibiotikum aus einer höheren Pflanze war. Und doch hatte der Wirkungsmechanismus der AS etwas mit der Abwehr bakterieller Entzündungen zu tun. Der Grazer Forscher MÖSE konnte zeigen, daß am Meerschweinchen, nach Behandlung mit AS aus der Leibeshöhle gewonnene Leukocyten aus einer zugesetzten Staphylokokkenaufschwemmung erheblich mehr Keime phagocytierten

als im Kontrollexperiment. Auch an der Maus ausgeführte Infektionsversuche mit Pneumokokken ergaben, bei vorheriger Zufuhr von AS, eine deutliche Steigerung der Überlebensrate, das heißt eine Steigerung der Infektionsresistenz (23,24,25). Nach WAGNER (26) definiert man Infektionsresistenz als genotypisch, konstitutionell bedingte unspezifische Widerstandsfähigkeit gegenüber verschiedenen Infekten, die bei Rassen oder Einzelindividuen einer an sich empfänglichen Spezies anzutreffen ist, die aber durch innere und äußere Einflüsse, also phänotypisch-konditionell ihrem Grad nach wandelbar ist. Sie ist nicht an eine vorher stattfindende Berührung mit einem spezifischen Antigen gebunden.

Im Einklang mit MÖSE (22), der außerdem eine Steigerung der Proliferation der Fibroblasten in seinen Wunde-Ring-Experimenten (28) feststellte (29,30,31), und JURZCOK und MAUL und HARTMANN (32-34), die im gynäkologischen, postoperative Heilungsbeschleunigungen und Thromboseverminderung erreichen konnten, und MOSER, JUMMEL, OHM, REINERS, ULBRICH, BAITGEN, KEILMANN, LEIBL, HEESEN (35-43), die selbst bei chronischen Entzündungen und Wunden mit AS-Präparaten Reinigung

und Granulationsbildung von "innen heraus" einleiten oder beschleunigen konnten, können folgende experimentelle Ergebnisse mit AS von MÖSE als repräsentativ gelten:

"1. Auch bei Kaltblütern (Karpfen und Aesculap-Nattern) wirkt die AS stark aktivierend auf die Phagocytose von Leukocyten.

2. AS besitzt keine Einwirkung auf die Bildung spezifischer Antikörper (dargestellt am Beispiel von Immun-Hämagglutininen).

3. AS ist in der Lage, die Schädigung der Phagocytose-Aktivität durch Chloramphenicol auszugleichen.

4. Bei der Phagocytose-Schädigung durch Prednison ist die Wirkung der AS abhängig von der Dosis. Von 2,5 mg/kg Prednison aufwärts war die Schädigung nicht beeinflußbar. Ab 1 mg/kg hingegen werden die Werte durch Behandlung mit AS eindeutig normalisiert.

5. Neben der Beeinflussung der Anzahl der Leukocyten besitzt N,N'-Bis-(2-chloräthyl)-N, O-propylenphosphorsäureesterdiamid (Cyclophosphamid, als Beispiel eines Cytostaticums) auch eine starke Hemmwirkung auf die Phagocytose-Aktivität (in der gewählten Tierversuchsanordnung).

AS ist in der Lage, diese Phagocytose-Schädigung selbst bei hohen Cyclophosphamid-Dosen auszugleichen. Die Anzahl der Leukocyten wird hingegen erwartungsgemäß durch AS nicht verändert.

6. Bei der AS handelt es sich nicht um ein neues Antibioticum...

... Das Wirkungsprinzip der Antibiotica trifft doch stets nur die eine Seite jedes Infektionsablaufs - nämlich die der angreifenden Erreger. Nicht oder nur indirekt hingegen wird die zweite Seite jeder Infektionserkrankung berührt - und dies ist die natürlich im erkrankten Organismus gegebene oder sich spezifisch entwickelnde Infektionsabwehr...

... Die Therapie mit AS greift nun ganz charakteristisch in diese, für jeden Infekt wichtige zweite Seite ein - in den natürlichen Abwehrmechanismus: die Phagocytose-Aktivität der Leukocyten wird nachdrücklich stimuliert..." (25)

1.2. STEROIDE UND INFEKTIONSRESISTENZ

Die Beobachtung, daß die verschiedensten Belastungen des Organismus gleiche Abwehrreaktionen hervorrufen und bei Schwächung der allgemeinen Abwehrlage die Anfälligkeit (Disposition) für eine unbestimmte Menge

von Krankheiten zunimmt, hat schon früh Forscher dazu veranlaßt, Theorien der unspezifischen Widerstandskraft aufzustellen und unspezifische Therapien vorzuschlagen.

PFEIFFER (1894) benutzte als erster den Begriff der unspezifischen Resistenz. Er zeigte, daß Meerschweinchen gegen eine sonst sicher tödliche Infektion mit virulenten Choleravibrionen nicht nur durch vorherige Infektion von saprophytischen Choleravibrionen, sondern auch durch die Einspritzung von Colibakterien, von Harn, von steriler Bouillon, von Nukleinsäurelösung u.a. geschützt werden. Dieses Ergebnis wurde von PFEIFFER und ISSAEFF als unspezifische Resistenzsteigerung interpretiert, die die natürlichen Abwehrkräfte des Organismus aktiviert (44). BIELING (45,46) und ZIMMERMANN und Mitarbeiter (47,48) geben einen historischen Zusammenhang. BIELING stellt eine Verbindung her zu der Theorie der vegetativen Gesamtumschaltung von HOFF 1930 (44). ZIMMERMANN (48) gibt eine detaillierte Einführung über "Grundlagen und Möglichkeiten der Infektabwehr" (1950). TONUTTI (1951) wies nach, daß das Vorhanden- oder Nichtvorhandensein von Hormonen für eine Infektion konstitutiv ist, oder sie völlig verhindert (49). ZIMMERMANN (1956) sieht die Infektionsabwehr als einen cooperativen Prozeß an zwischen örtlich

mesenchymalen, endokrinen und zentralen Reaktionen der Hypophyse und der Nebennierenrinde, Zellen, Eiweiß und Hormonen (50). Er beschränkt auch den Untersuchungszeitraum auf die ersten 8 bis 10 Tage, da in dieser Zeit noch keine spezifische Antikörperbildung nachweisbar ist und dennoch eine direkte Reaktion gegen eindringende Mikroorganismen nachgewiesen ist. Dies trifft auch auf unser Experiment zu. Als mögliche Indikatoren haben sich für den Infektionsverlauf die Steroidzusammensetzungen (in Blut und Urin) erwiesen, insbesondere das Verhältnis der 17-Ketosteroide zu dem der Corticoide (47,50-62). Jede Form von Stress erhöht die funktionelle Tätigkeit des Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems und damit die Ausscheidung von 17-Ketosteroiden bzw. Corticoide im Urin (62,63). Bei chronischen auszehrenden Krankheiten jedoch ist diese Ausscheidung vermindert (47,50,51,64). Bei Morbus Addison ist die Ausscheidung sowohl der Corticoide und der 17-Ketosteroide stark herabgesetzt, wobei eine besondere Anfälligkeit gegenüber Infektionen besteht (47,50).

Bei Morbus Cushing ist die Corticoidausscheidung erhöht, dagegen die 17-Ketosteroidausscheidung erniedrigt (50). Einen umfassenden Überblick bei verschiedensten Belastungen gibt die Tabelle 2 in der Arbeit von ZIMMERMANN 1956 (50,47). Einerseits kann der infizierte Organismus durch unspezifische Resistenzsteigerung auch andere Infektionen mit abwehren, andererseits kann er dadurch anfälliger gegen andere Krankheiten werden. Dies hängt außer von der Art der Infektion von der allgemeinen körperlichen Erschöpfung ab (65,48). Da ZIMMERMANN (1956) referiert hat, daß bei Unterfunktion der Nebennierenrinde die verminderte 17-Ketosteroidausscheidung und die Infektionsresistenz durch Cortisongaben erhöht wird und umgekehrt bei erhöhter 17-Ketosteroidausscheidung durch höhere Cortisongaben die 17-Ketosteroidausscheidung und die Infektionsresistenz vermindert wird (1956), kann geschlußfolgert werden, daß nicht allein die Höhe und Richtung der Hormonausscheidung ein Maß für die Resistenzlage des Organismus ist, sondern auch das funktionale Verhältnis der 17-Ketosteroide zu den Corticoiden und die Ausgangslage des Organismus:

"Im Harn von Schwerkranken, z.B. Tuberkulosepatienten, findet man dann ein relatives Überwiegen der Corticoide, der Harnderivate

der katabolen Cortisolgruppe, über die 17-Ketosteroide, die Abbauprodukte der anabolen Testosterongruppe. Erst wenn das Krankheitsbild sich wieder zum Guten wendet, wenn bei der Tuberkulose beispielsweise die überwiegend exsudative Phase mit ihren Einschmelzungen einen mehr produktiven Verlauf nimmt, dann kommt es wieder zu einem fast der Norm entsprechenden Gleichgewicht zwischen Corticoiden und 17-Ketosteroiden im Harn. Man kann aus diesen Analysen schließen, daß dann, wenn sich eine Überwindung der Infektionskrankheit abzuzeichnen beginnt, die ACTH-Produktion der Hypophyse zurücktritt, vielleicht zugunsten von STH. Wenn dieses zusammen mit den anabolen, eiweißaufbauenden Hormonen aus Nebennierenrinde und Gonaden die mesenchymalen Blastemzellen zur Proliferation anregt, dann werden Phagozytose und Immunreaktionen gefördert, und die Invasion der Mikroorganismen kann leichter überwunden werden (ZIMMERMANN 1956).

1.3. FRAGESTELLUNG

Die Aufgabe unseres Experimentes besteht nun darin, das Verhalten der Steroide im Blut und im Urin bei Zufuhr von AS und ohne AS, bei mit Salmonellen infizierten und nicht infizierten Meerschweinchen

zu untersuchen. Die spezifische Fragestellung lautet: Kann im Sinne ZIMMERMANNs (1951,1955, 1956,1958) die Ausscheidung von bestimmten Nebennierenrindenhormonen (17-KS, KGS, GKS, PSC) und deren Quotienten $\left(\frac{\text{katabole HD}}{\text{anabole HD}}\right)$ bei gleichzeitiger Interaktion der AS, den Verlauf der Infektion widerspiegeln bzw. voraussagen?

2. METHODIK UND MATERIAL

2.1. TIERVERSUCHE

Zu unserem Versuch wurden 100 männliche und 100 weibliche Meerschweinchen vom Stamm "PIRBRIGHT white" verwendet. Das Gewicht der Tiere betrug zu Versuchsbeginn ca. 460 g im Durchschnitt, wobei ein Streubereich von ~~410~~-510 g vorhanden war. Die Tiere wurden 3 Wochen vor und während des Vor- und Hauptversuches unter konstanten Bedingungen gehalten, um Umstellungsreize und deren Reaktion auszuschalten. Wir hielten die Tiere in zugfreien Räumen bei einer annähernd konstanten Temperatur, nämlich 22° - 24°C. Die einzelnen Tiergruppen wurden während des Versuches in Stoffwechselkäfigen und Holzkäfigen streng voneinander getrennt. Das Futter der Tiere, das einmal pro die verfüttert wurde, bestand aus Meerschweinchenfutter M der Firma Juchem; Wasser wurde ad libitum gegeben.

2.1.1. Vorversuch

2.1.1.1. Herstellen der Infektionslösung

Bei 20 Tieren (10 männl. u. 10 weibl.) testeten wir die notwendige Infektionsdosis, sowie das Verhalten der infizierten Tiere nach Zufuhr von AS. Die Infektion erfolgte durch subcutane

Injektion mit verschiedenen Verdünnungsgraden einer Schrägagarabschwemmung nach DUMAS (66). Als Keim benutzten wir den für Meerschweinchen pathogenen, aber nur schwach virulenten Stamm "Salmonella typhimurium S 7".[x] Die Kulturen wurden 24 Stunden bei 37° im Brutschrank bebrütet. Nach Abschwemmung der Kulturen mit 2 ml steriler physiologischer NaCl wurde die Stammlösung auf $^1/_{15}$, $^1/_{20}$, $^1/_{30}$, $^1/_{50}$, $^1/_{80}$ verdünnt und jeweils 1 ml dieser Lösung den Tieren subkutan injiziert. Da wir die Vorgänge vor Einsetzen der Antikörperbildung untersuchen wollten, sollte die Zeit, in der 50 % unserer Tiere gestorben waren, unter dem 10. Tag liegen, da bis zu diesem Zeitpunkt keine Immunreaktionen nachweisbar sind. Bei der $^1/_{15}$ verdünnten Abschwemmung fanden wir eine ST_{50} von 3 Tagen. Da wir im Hauptversuch die gleiche Lösung verwenden wollten, wurde im Plattengußverfahren eine Keimzählung durchgeführt (= $7{,}0 \times 10^8$ Keime pro 1 ml) und die Extinktion der Infektionslösung im Eppendorf-Photometer gemessen. Wir erhielten für diese Lösung einen Wert von 0,342.

---

x Wir danken der Firma Merck, die uns diesen Stamm zur Verfügung gestellt hat.

2.1.1.2. Applikation der AS und Verträglichkeit

Die AS kann in Form ihres Natriumsalzes sowohl subkutan als auch intramuskulär injiziert werden (67). Den Tieren verabreichten wir 1 ml einer 10^{-4} verdünnten Lösung intraperitoneal, da diese Konzentration beim Meerschweinchen ein Wirkungsoptimum verspricht (25). Die Lösung wurde wie folgt hergestellt:
34 mg AS wurden mit 1 ml 0,1 normaler Natronlauge versetzt und auf 1 Liter mit sterilem destiliertem Wasser aufgefüllt.
Es traten bei allen Tieren, die mit dieser Lösung gespritzt wurden, keine Nebenwirkungen auf.

2.1.2. Hauptversuch

Wir teilten die Tiere in 4 verschiedene Gruppen und trennten die infizierten räumlich von den nicht infizierten Tieren.
Die Einteilung ergibt sich wie folgt:

Gruppe I = Versuchsgruppe
Gruppe II, III, IV = Kontrollen

Gruppe I = Infektion und AS = 80 Tiere
davon 20 Tiere in Stoffwechselkäfigen
60 Tiere in Holzkäfigen

Gruppe II = Infektion (ohne AS) = 60 Tiere
davon 20 Tiere in Stoffwechselkäfigen
40 Tiere in Holzkäfigen

Gruppe III = AS (ohne Inf.) = 20 Tiere
davon 10 Tiere in Stoffwechselkäfigen
10 Tiere in Plastikkäfigen

Gruppe IV = 0,9 % sterile NaCl = 20 Tiere
davon 10 Tiere in Stoffwechselkäfigen
10 Tiere in Plastikkäfigen

Vier Tage vor Versuchsbeginn und während des ganzen Versuchszeitraumes applizierten wir den Tieren der Gruppe I und III pro die 1 ml der unter 2.1.1.2. hergestellten Lösung. Den Tieren der Gruppe IV wurde zur selben Zeit 1 ml physiologischer NaCl injiziert. Zu Beginn des Hauptversuches injizierten wir der Gruppe I und II 1 ml unserer unter 2.1.1.1. hergestellten Infektionslösung.
Die Tierkäfige wurden in regelmäßigen Abständen von drei Tagen mit heißem Wasser gereinigt mit einer verdünnten Lösung eines Desinfektionsmittels (Bac) desinfiziert und die Holzkäfige zusätzlich mit Stroh gefüllt; die Trink- und Freßnäpfe wurden täglich gereinigt.

2.1.2.1. Sammlung des Urins

Um den Urin, der für die Hormonanalysen verwendet werden sollte, zu sammeln, setzten wir

die Tiere in eigens dafür entwickelte Stoffwechselkäfige und zwar von Gruppe I und II je 20 und Gruppe III und IV je 10. In die Urinsammelgefäße gaben wir täglich je 5 ml Eisessig, um eine bakterielle Zersetzung zu vermeiden. Dazu wurden die Stoffwechselkäfige täglich mit 50 ml Wasser ausgespült und diese Menge dem Urin beigegeben.

2.1.2.2. Sammlung des Blutes

Das Blut für die Gewinnung der Plasmasteroidwerte wurde täglich bei 3 Tieren der Gruppe I, bei 4 Tieren der Gruppe II, bei 1 Tier der Gruppe III und 1 Tier der Gruppe IV entnommen. Dabei wurden die Tiere durch Genickschlag getötet und mittels Dekapitation entblutet. Dieses Blut wurde dann, getrennt nach Gruppen I - IV, gepoolt und sofort mit Citrat versetzt und 20 min. bei ca. 3 000 Umdrehungen/min. zentrifugiert. Das Plasma wurde anschließend vom Citratblut getrennt und bis zur Weiterverarbeitung bei -18°C gelagert.

2.1.2.3. Infektionskontrolle

Zur Prüfung, ob die Salmonelleninfektion bei den Versuchstieren angegangen war, entnahmen wir den moribunden Tieren der Gruppen I und II mittels steriler Herzpunktion einige ml Blut, um dieses auf eine Bakteriämie zu untersuchen. Die Anzüchtung der Keime er-

folgte auf Blut- und Leifson Platten. Die Platten wurden 24 Std. im Brutschrank gehalten und die Bakterienkolonien anschließend mit Salmonellen Faktorenserum Anti-O 4,5 (BEHRING-Werke) auf Agglutination getestet. Die Ergebnisse waren alle positiv.

2.1.2.4. Temperaturkontrolle

Die Messung der Körpertemperaturen erfolgte täglich. Es wurden jeweils 5 Tiere einer Gruppe tief rektal gemessen. Die gefundenen Werte wurden gemittelt.

2.1.2.5. Gewichtskontrolle

Alle Tiere wurden am Anfang und die restlichen am Ende unserer Versuche, also nach dem 10. Tag, mit Hilfe einer Dezimalwaage gewogen. Die Meßergebnisse wurden jeweils gemittelt.

2.2. BIOCHEMISCHE ANALYSEN

Die biochemischen Nachweise der Steroide in Harn und Plasma erfolgten nach folgenden Methoden:
Die Bestimmung der 17-Ketosteroide im Urin mit Hilfe der Methode nach ZIMMERMANN 1935, 1936, 1952, 1955 (70); die Bestimmung der 17-ketogenen Steroide nach der Methode von NORYMBERSKI 1953 (68); die Bestimmung der freien 17-OH-Corticosteroide im

Plasma nach der Methode von PORTER und SILBER 1950 (69) modifiziert von SILBER - BUSH; die Bestimmung der 17-Ketosteroide und der gebundenen 17-OH Corticosteroide im Plasma nach der Methode von OERTEL und KAISER 1962 (71). Eine ausführliche Beschreibung dieser Methoden wurde bereits an anderer Stelle gegeben, so daß hierauf verwiesen werden kann (60).

2.3. STATISTISCHE AUSWERTUNG DER ANALYSENDATEN

Ein statistischer Vergleich der Parameter an einzelnen Tagen war wegen der gewählten Versuchsanordnung nicht möglich. Daher wurden nur die Mittelwerte der einzelnen Meßgrößen zur statistischen Auswertung benutzt. Da aber durch Extremwerte das arithmetische Mittel stark beeinflußt wird, kann man erwarten, daß sich, trotz statistisch gesicherter Unterschiede, Zu- oder Abnahmen einzelner Meßgrößen ergeben können.

Die Versuchsergebnisse wurden auf einem 5-Kanal-Lochstreifen übertragen und im Rechenzentrum HOMBURG maschinell bearbeitet.

Die Mittelwertsunterschiede in einer Meßgröße zwischen den 4 Versuchsgruppen wurden nach dem t-Test berechnet. Die der t-Wert-Tabelle von FISHER und YATES entnommenen Überschreitungswahrscheinlichkeiten ($\alpha = 0{,}05$) (72) sind in der Tabelle 12 festgehalten. Die Rangkorrelations-

koeffizienten nach SPEARMAN wurden berechnet, ym Parallelität der Meßgrößen bei verschiedenen Meßarten innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen festzustellen. Als statistisch gesicherte Korrelationen wurden nur solche Prüfgrößen zugelassen, bei denen die zugehörige Irrtumswahrscheinlichkeit α = 5 % betrug. Die den Berechnungen zu Grunde liegenden Formeln wurden den wissenschaftlichen Tabellen von GEIGY entnommen (73).

3. ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNG

3.1. ANALYSENDATEN

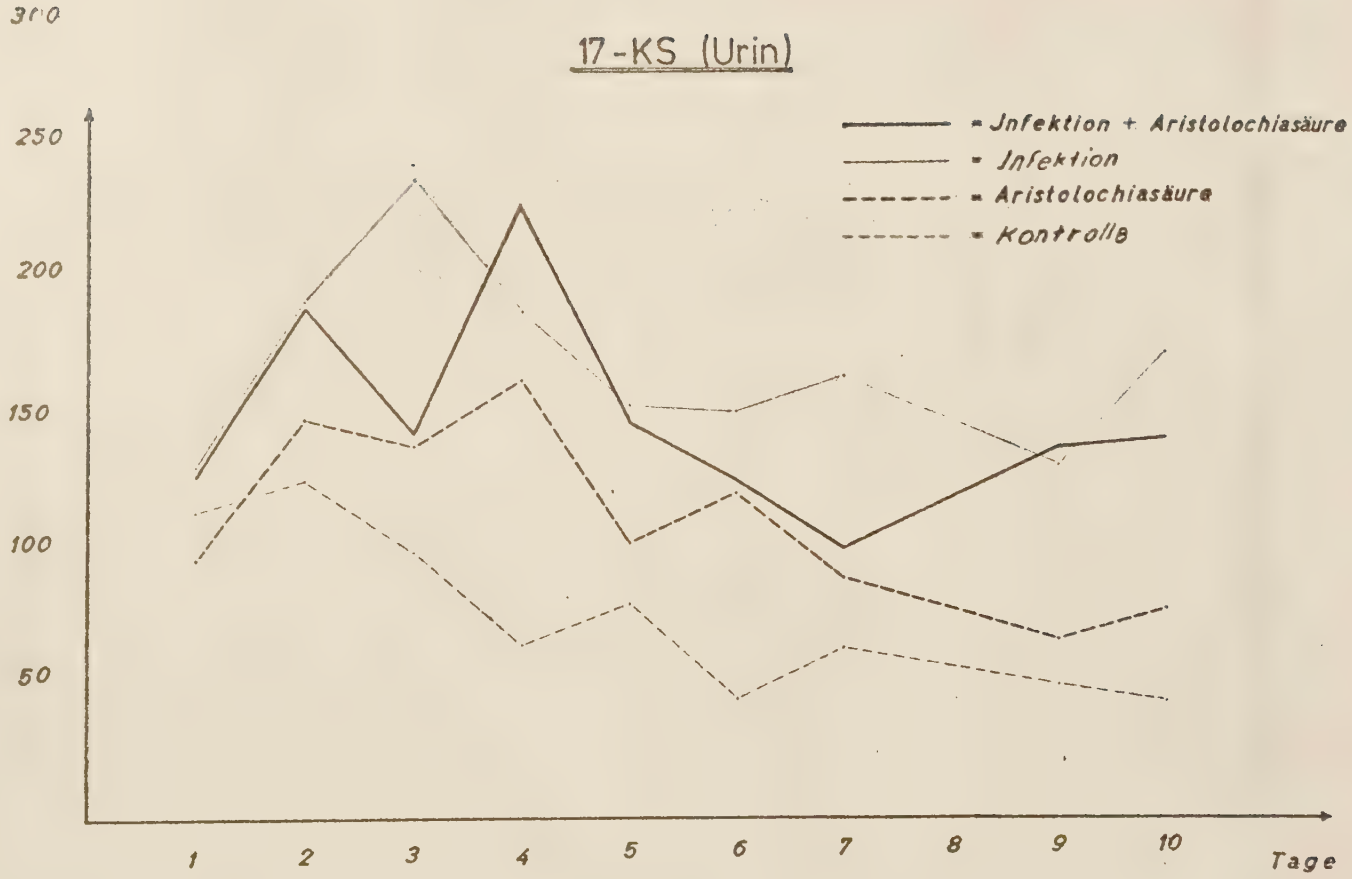
Die Original-Meßwerte stammen von 180 Meerschweinchen vom Stamm PIRBRIGHT white.

Tabelle 1 gibt die Meßwerte der 17-Ketosteroide (17-KS) im Urin wieder (γ/Tag):

17-KS (Urin)

Tabelle 1

Tage	Gr. I	Gr. II	Gr. III	Gr. IV
1	121	122	95	112
2	187	189	145	123
3	140	234	136	97
4	224	185	161	63
5	145	150	100	78
6	123	148	118	43
7	98	161	87	62
8	-	-	-	-
9	136	129	65	48
10	138	170	76	43


300
17-KS (Urin)
250
200
150
100
50
= Infektion + Aristolochiasäure
= Infektion
= Aristolochiasäure
= Kontrolle
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Tage

Die graphische Darstellung der Meßwerte der 17-Ketosteroide im Urin zeigt, daß sich bei der Gruppe, die infiziert und mit AS behandelt war, kaum Signifikanzen in der 17-KS Ausscheidung ergaben, gegenüber der Gruppe, die nur infiziert war. Ganz deutlich zeigt sich aber eine erhöhte Ausscheidung der Gruppen I und II gegenüber den nicht infizierten Gruppen III und IV. Gruppe III (AS) zeigt gegenüber der Kontrollgruppe IV eine leichte Erhöhung der Meßwerte im gesamten Verlauf. Bei allen 4 Gruppen ist außerdem ein Ansteigen der ausgeschiedenen Menge zu Beginn des Versuches bis zum 4. Tag feststellbar.

Tabelle 2 gibt die Meßwerte der 17-ketogenen Steroide (KGS) im Urin wieder (γ Tag):

17-KGS (Urin)

Tabelle 2

Tage	Gr. I	Gr. II	Gr. III	Gr. IV
1	189	264	150	98
2	305	516	258	188
3	303	462	241	198
4	214	394	187	144
5	363	237	178	128
6	334	399	261	143
7	439	644	313	102
8	-	-	-	-
9	298	403	263	134
10	246	216	107	98

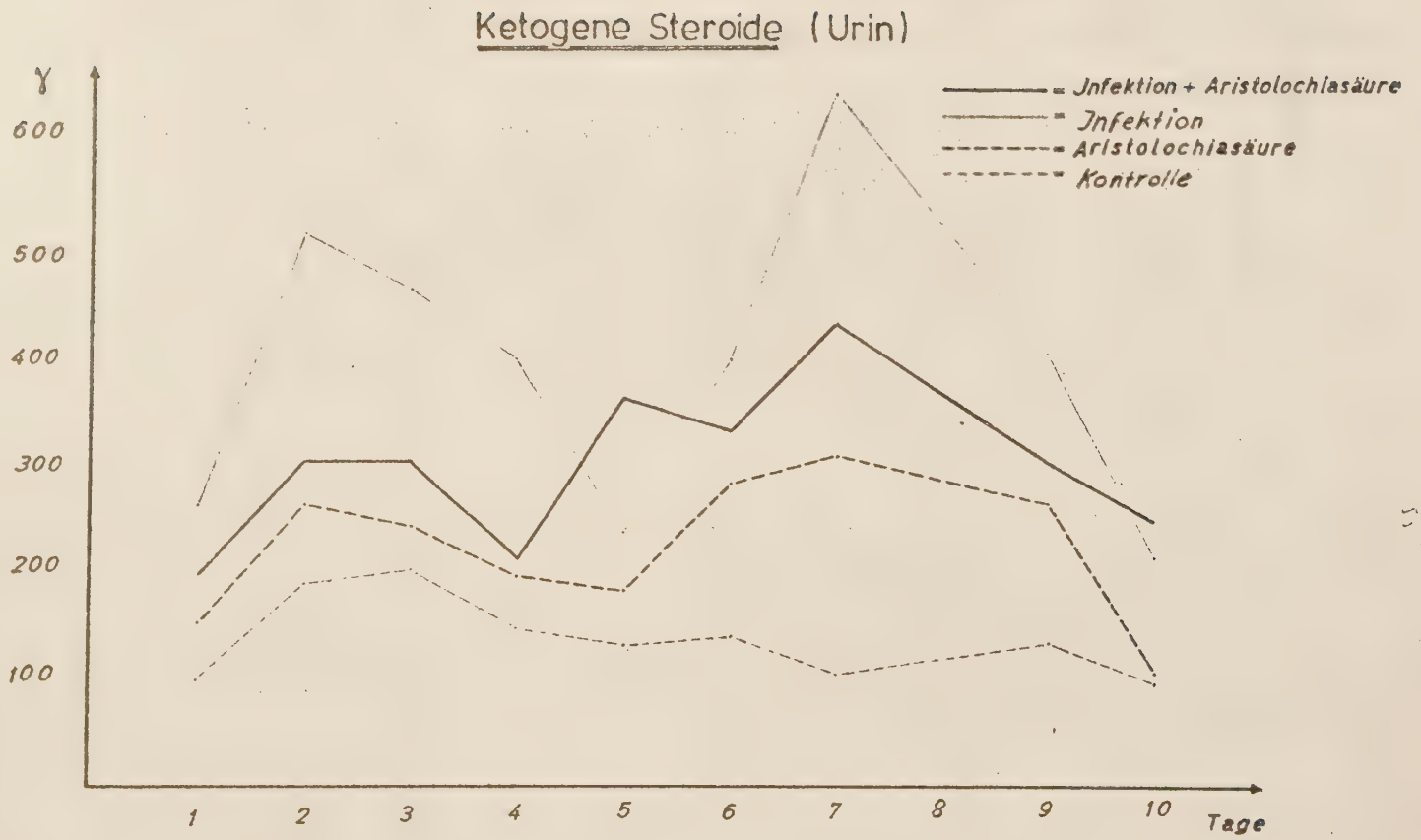

Ketogene Steroide (Urin)
γ
600
500
400
300
200
100
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Tage
Infektion + Aristolochiasäure
Infektion
Aristolochiasäure
Kontrolle

Abbildung 2 zeigt die graphische Darstellung. Hier ist, im Gegensatz zu den 17-KS im Urin, ein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe I und II zu beobachten. Aus der Darstellung geht hervor, daß sich die Ausscheidung der 17-ketogenen Steroide nach Gabe von AS erniedrigt. Die Meßwerte der Gruppe III laufen auch hier im gesamten Versuchszeitraum denjenigen der Gruppe IV erhöht parallel. Auffällig bei allen 3 Kurven ist das rasche Annähern am 9. und 10. Tag an die Kontrollwerte der Gruppe IV.

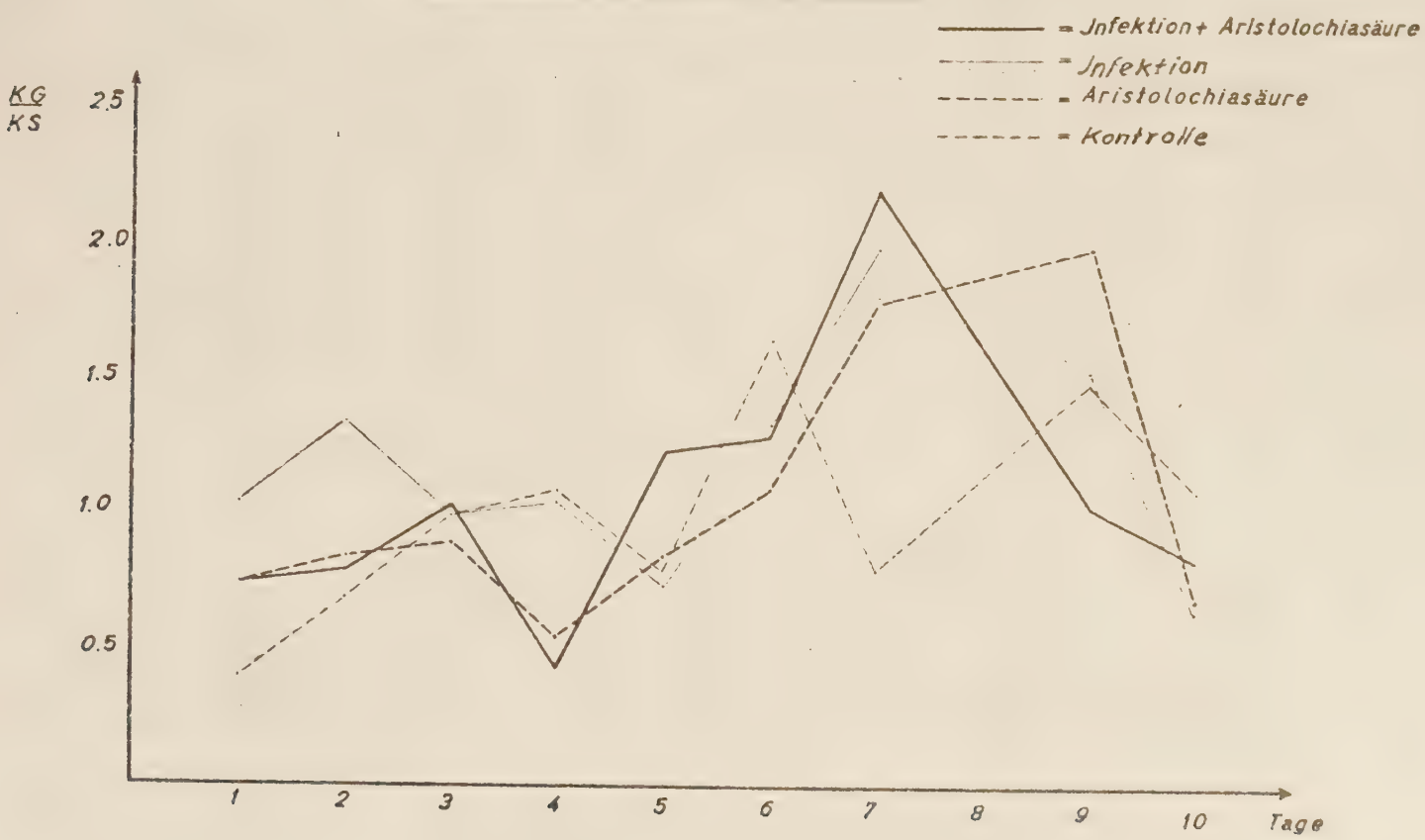
Tabelle 3 zeigt die Meßwerte des Quotienten der 17-ketogenen Steroide und der 17-Ketosteroide im Urin (γ/Tag):

KGS/KS (Urin)

Tabelle 3

Tage	Gr. I	Gr. II	Gr. III	Gr. IV
1	0,75	1,05	0,75	0,40
2	0,80	1,35	0,85	0,70
3	1,05	1,00	0,90	1,00
4	0,45	1,05	0,55	1,10
5	1,25	0,75	0,85	0,80
6	1,30	1,35	1,10	1,65
7	2,20	2,00	1,80	0,80
8	-	-	-	-
9	1,05	1,55	2,00	1,50
10	0,85	0,65	0,70	1,10

Quotient Gesamt KGS/KS (Urin)



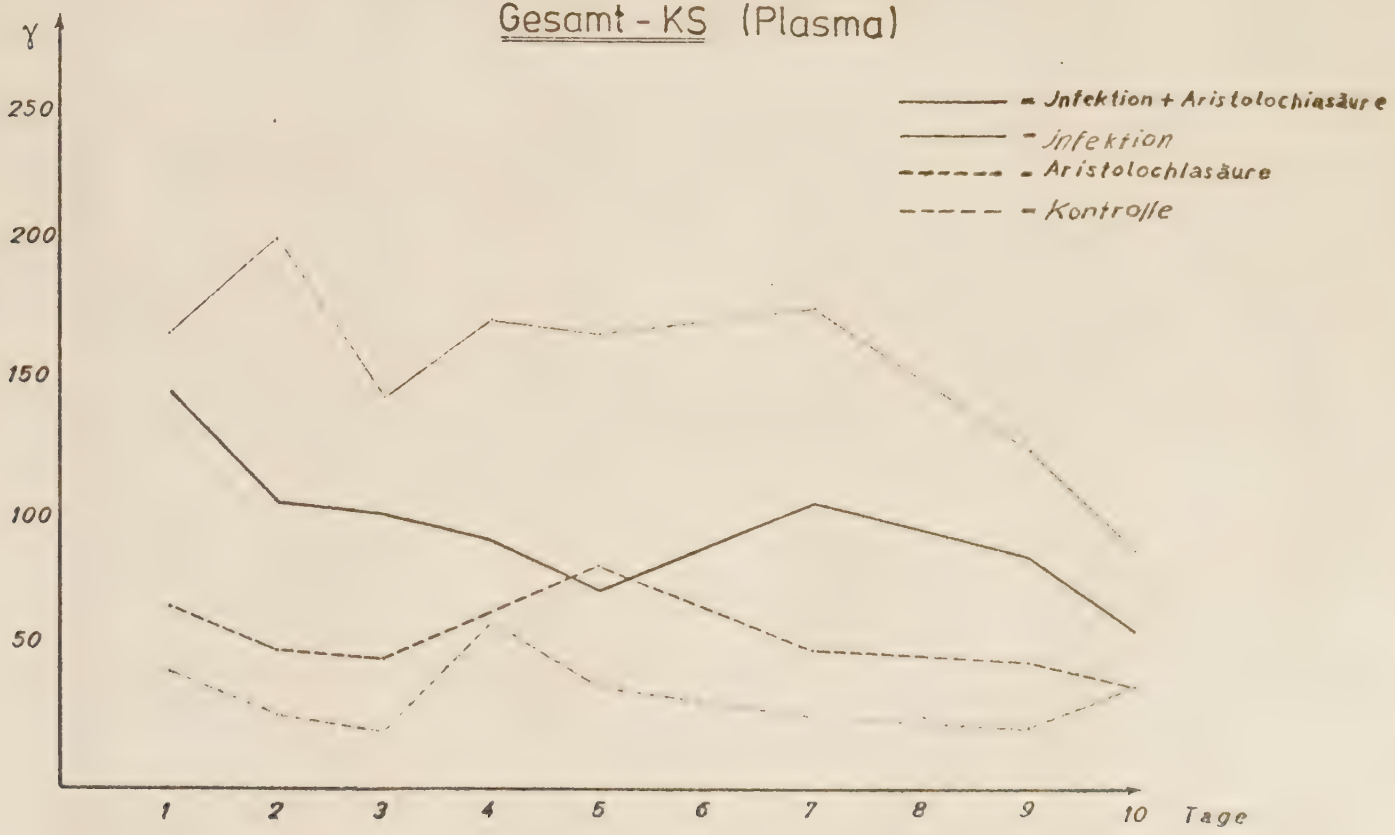
In der Abbildung 3 fällt eine Erhöhung des Quotienten von katabolen zu anabolen Steroiden der Gruppe I, II, III zwischen dem 6. und 10. Tag auf. Die Gruppen I und II laufen parallell und zeigen der Kontrollgruppe IV gegenüber nur eine geringe Abweichung.

Tabelle 4 zeigt die Meßwerte der Gesamt-Ketosteroide (GKS) im Plasma (γ/Tag):

GKS (Plasma)

Tabelle 4

Tage	Gr. I	Gr. II	Gr. III	Gr. IV
1	146	165	66	41
2	105	200	50	27
3	100	143	48	20
4	90	171	63	61
5	72	166	81	37
6	-	-	-	-
7	106	176	50	27
8	-	-	-	-
9	85	124	47	22
10	58	88	38	38


Gesamt - KS (Plasma)
γ
250
200
150
100
50
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Tage
= Infektion + Aristolochiasäure
= Infektion
= Aristolochiasäure
= Kontrolle

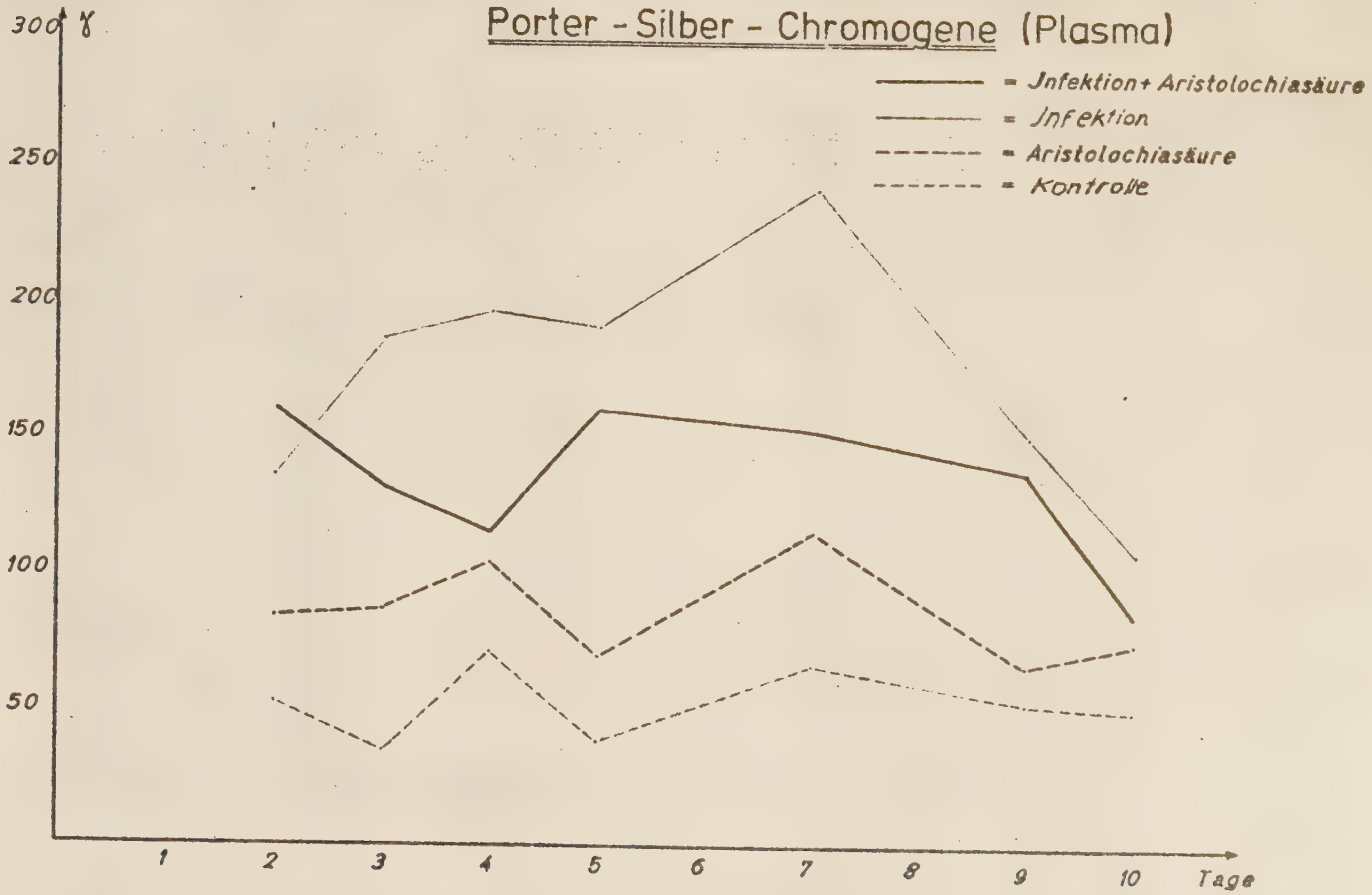
In Abbildung 4 unterscheiden sich die Meßwerte der Gruppe I und II schon einen Tag nach Versuchsbeginn, und zwar werden die Tiere, die mit AS behandelt wurden, in ihrer Ausscheidung konstant niedrig gehalten, die nur infizierten Tiere hingegen weisen eine signifikant erhöhte Ausscheidung auf. Bei den Kontrollgruppen III und IV ergeben sich unwesentliche Verschiebungen.

Tabelle 5 zeigt die Meßwerte der freien Corticoide (PSC) (PORTER-SILBER-Chromogene) im Plasma (γ /Tag):

PSC (Plasma)

Tabelle 5

Tage	Gr. I	Gr. II	Gr. III	Gr. IV
1	-	-	-	-
2	160	145	83	52
3	132	186	84	34
4	115	196	103	71
5	160	190	70	39
6	-	-	-	-
7	153	251	117	67
8	-	-	-	-
9	138	150	65	51
10	85	108	74	50


Porter - Silber - Chromogene (Plasma)
= Infektion + Aristolochiasäure
= Infektion
= Aristolochiasäure
= Kontrolle
300 γ
250
200
150
100
50
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Tage

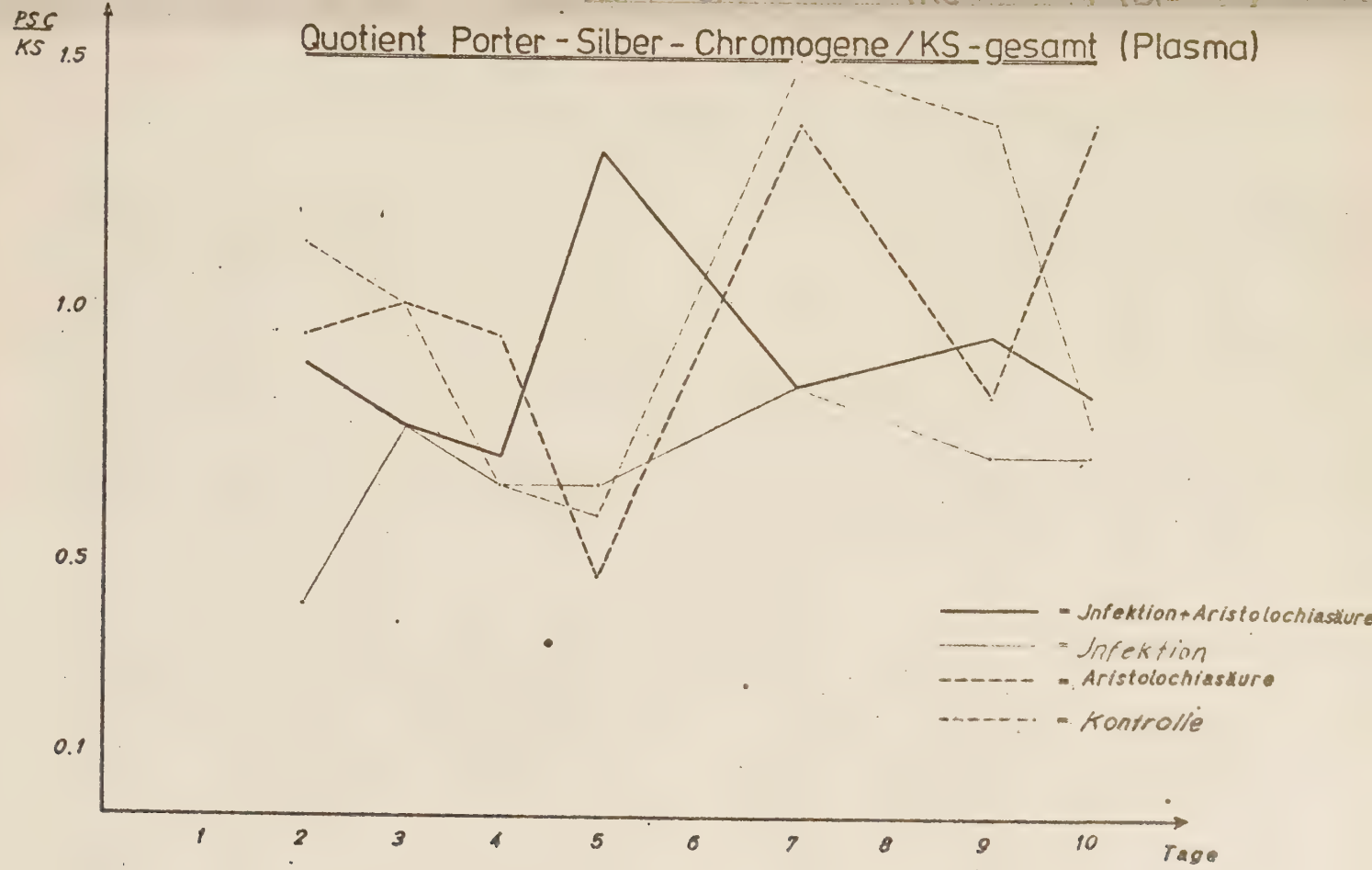
Im Verlauf der Infektion ist bei den Meßwerten der freien Corticoiden eine signifikante Erniedrigung der mit AS behandelten Tiere gegenüber den nur infizierten Tieren festzustellen. Daraus geht hervor, daß die Ausscheidung der freien Corticoide durch Infektion nach Gabe von AS erniedrigt wird. Die Kurven der Gruppen III und IV verlaufen während des ganzen Versuchszeitraumes ziemlich gleichförmig. Es ist eine deutlich erhöhte Ausscheidung von freien Corticoiden bei der Gruppe III zu beobachten.

Tabelle 6 zeigt die Meßwerte des Quotienten der Gesamt-Ketosteroide und der freien Corticoide im Plasma (γ/Tag):

GKS/PSC (Plasma)

Tabelle 6

Tage	Gr. I	Gr. II	Gr. III	Gr. IV
1	-	-	-	-
2	0,90	0,42	0,96	1,14
3	0,78	0,78	1,02	1,02
4	0,72	0,66	0,96	0,66
5	1,32	0,66	0,48	0,60
6	-	-	-	-
7	0,86	0,86	1,38	1,50
8	-	-	-	-
9	0,96	0,72	0,84	1,38
10	0,84	0,72	1,38	0,78


PSC
KS
1.5
1.0
0.5
0.1
Quotient Porter - Silber - Chromogene / KS - gesamt (Plasma)
= Infektion + Aristolochiasäure
= Infektion
= Aristolochiasäure
= Kontrolle
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Tage

Die graphische Darstellung der Meßwerte der Gruppe I und II zeigt in Abbildung 6 eine signifikante Erhöhung des Quotienten nur zwischen dem 4. und 6. Tag. Außerhalb dieses Bereiches verlaufen die Kurven fast gleichförmig. Die Kurven der Gruppen III und IV zeigen vom 2. Tag ab ein Absinken des Quotienten, dem ab dem 5. Tag ein enormes Ansteigen folgt. Gegen Ende des Versuches pendeln sich die Werte wieder ein.

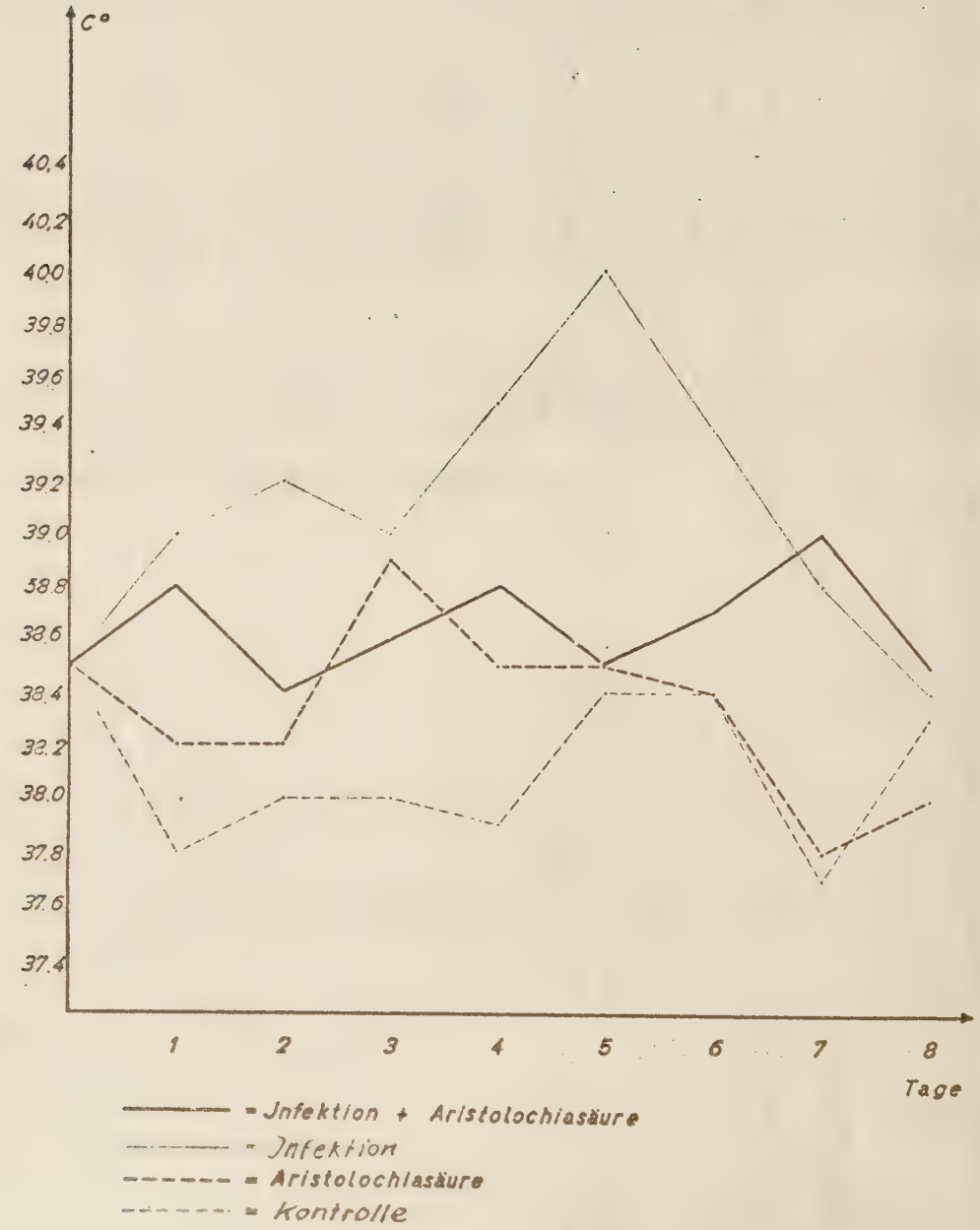
Tabelle 7 zeigt die Meßwerte der rektalen Körpertemperatur der Tiere während des gesamten Versuches:

Temperatur

Tabelle 7

Tage	1	2	3	4	5	6	7	8
Gr. I	38^{8}	38^{4}	38^{6}	38^{8}	38^{5}	38^{7}	39^{0}	38^{5}
Gr. II	39^{0}	39^{2}	39^{0}	39^{5}	40^{0}	39^{4}	38^{8}	38^{4}
Gr. III	38^{2}	38^{2}	38^{9}	38^{5}	38^{5}	38^{4}	37^{8}	38^{0}
Gr. IV	37^{8}	38^{0}	38^{0}	37^{9}	38^{4}	38^{4}	37^{7}	38^{3}

Temperaturkurve



In Abbildung 7 zeigt die graphische Darstellung der Körpertemperaturen der Gruppe I niedrigere Temperaturwerte, als die der Gruppe II. Die Kurve der Gruppe I bewegt sich sogar fast im Normbereich. Daraus geht hervor, daß bei gesetzter Infektion nach Gabe von AS die Temperatur signifikant erniedrigt wird.

Tabelle 8 zeigt die Urinmenge der einzelnen Gruppen in ml/Tag. Die angegebenen Mengen enthalten jeweils 50 ml Wasser, mit dem die Stoffwechselkäfige ausgespült wurden.

Urinmengen

Tabelle 8

Tage	Gr. I	Gr. II	Gr. III	Gr. IV
1	900/20 T	850/20 T	450/10 T	425/10 T
2	900/20 T	820/18 T	500/10 T	450/10 T
3	840/20 T	780/18 T	460/10 T	390/10 T
4	920/20 T	660/17 T	450/10 T	340/10 T
5	820/20 T	610/17 T	490/10 T	290/10 T
6	790/20 T	520/16 T	390/10 T	200/10 T
7	820/20 T	370/15 T	250/10 T	260/10 T
8	-	-	-	-
9	810/20 T	350/10 T	230/10 T	200/10 T
10	400/10 T	450/10 T	290/10 T	200/10 T

Anmerkung: T = Tiere

Tabelle 9 zeigt das Gewicht der Tiere am 1. und am 9. Tag. Beim Vergleich der Mittelwerte der Gruppen, zu Anfang und Ende des Versuches, zeigt sich eine deutliche Gewichtszunahme bei den Gruppen III und IV, eine unbedeutende Zunahme bei Gruppe I. Bei den Tieren der Gruppe II war eine Gewichtsabnahme zu verzeichnen.

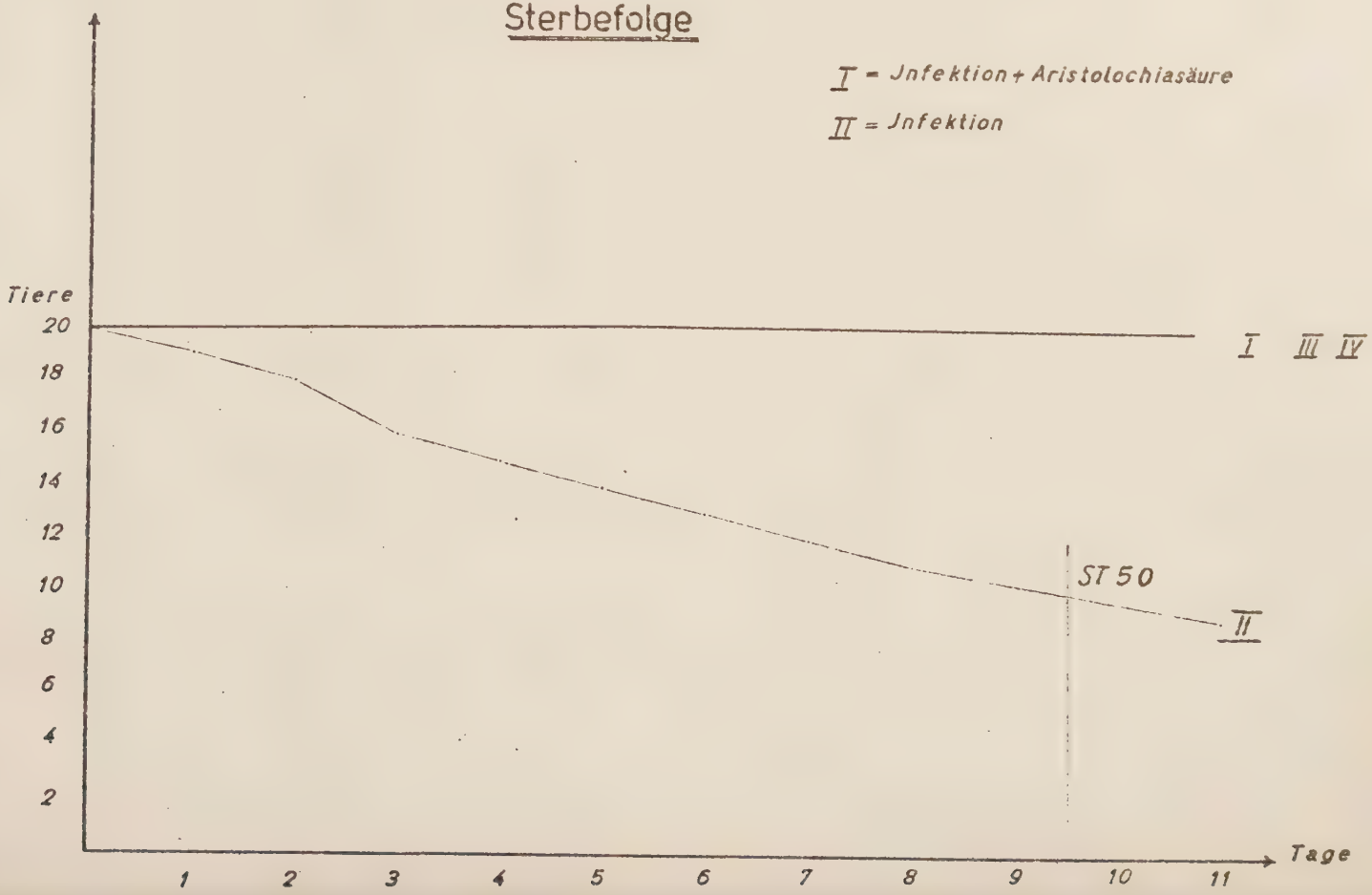
Tabelle 9

Gewicht der Tiere am Anfang (Mittelwerte)		Gewicht der Tiere nach 9 Tagen (Mittelwerte)
Gr. I	500 g	530 g
Gr. II	410 g	380 g
Gr. III	510 g	560 g
Gr. IV	450 g	510 g

Tabelle 10 zeigt die Absterberate im Hauptversuch.

Tabelle 10

Tage	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Gr. I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gr. II	1	1	2	1	1	1	1	1	-	-	2
Gr. III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gr. IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-


Sterbefolge
I = Jnfektion + Aristolochiasäure
II = Jnfektion
Tiere
20
18
16
14
12
10
8
6
4
2
I III IV
ST 50
II
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
Tage

In Abbildung 9 ist die Absterberate im Hauptversuch graphisch dargestellt. Sie zeigt, daß sich die St_{50}, die im Vorversuch bei 8 Tagen erreicht war, auf 9,5 Tage verschoben hat. Bei den Tieren der Gruppe I (AS u. Infektion) ist festzustellen, daß sie gegen eine Infektion mit Salmonella typhimurium resistent waren. Die Tiere der Gruppe II (Infektion) zeigen eine fast linear fallende Sterbekurve.

3.2. ERGEBNISSE DER STATISTISCHEN AUSWERTUNG

Tabelle 11 zeigt die Mittelwerte und die dazugehörigen Streuungen der untersuchten Parameter in den 4 Versuchsgruppen. Durch Mittelung über die Zeit erhält man ein Niveaumaß für die einzelnen Parameter, das zur Prüfung von Unterschieden zwischen den Versuchsgruppen herangezogen werden kann.

	Gruppe I			Gruppe I		
17-KS	N = 9	M = 145,8	A = 37,8	N = 9	M = 165,3	A = 34,3
KGS	N = 9	M = 299,0	A = 76,7	N = 9	M = 392,7	A = 139,3
PSC	N = 7	M = 134,7	A = 27,3	N = 7	M = 175,1	A = 45,7
GKS	N = 8	M = 95,2	A = 26,4	N = 8	M = 154,1	A = 34,9
KGS/KS	N = 9	M = 1,07	A = 0,49	N = 9	M = 1,19	A = 0,41
PSC/GKS	N = 7	M = 0,91	A = 0,19	N = 7	M = 0,68	A = 0,13
TEMP.	N = 8	M = 38^{6}	A = 1,90	N = 8	M = 39^{1}	A = 4,83

	Gruppe III			Gruppe IV		
17-KS	N = 9	M = 109,2	A = 32,7	N = 9	M = 74,3	A = 30,1
KGS	N = 9	M = 217,5	A = 65,7	N = 9	M = 137,0	A = 36,6
PSC	N = 7	M = 85,1	A = 18,7	N = 7	M = 52,0	A = 13,4
GKS	N = 8	M = 55,3	A = 13,6	N = 8	M = 34,1	A = 13,3
KGS/KS	N = 9	M = 1,05	A = 0,50	N = 9	M = 1,00	A = 0,39
PSC/GKS	N = 7	M = 1,00	A = 0,31	N = 7	M = 1,01	A = 0,35
TEMP.	N = 8	M = 38^{3}	A = 3,39	N = 8	M = 38^{0}	A = 2,72

Tabelle 12 zeigt die t-Werte für die Mittelwertsdifferenzen zwischen den 4 Versuchsgruppen.
α = die Überschreitungswahrscheinlichkeit der Schätzwerte im zweiseitigen t-Test. Der zweiseitige t-Test wurde deshalb gewählt, da wir nicht sicher sein konnten wie und in welche Richtung die AS den Steroidhaushalt beeinflusst.

Tabelle 12

Temperatur

Gruppe	t / α	II	III	IV
I	t	2,70	2,51	4,99
	α	0.05	0.05	0.002
II	t	-	4,06	5,57
	α		0.01	0.01
III	t	-	-	1.55
	α			-

17-KS

Gruppe	t / α	II	III	IV
I	t	1,14	2,19	4,43
	α	-	-	0.01
II	t	-	3,54	5,97
	α		0.01	0.001
III	t	-	-	2,35
	α			0.05

Ketogene Steroide

Gruppe	t / α	II	III	IV
I	t	1,76	2,41	5,71
	α	-	0.05	0.001
II	t	-	3,41	5,32
	α		0.01	0.001
III	t	-	-	3,21
	α			0.02

Porter-Silber-Chromogene

Gruppe	t / α	II	III	IV
I	t	2,00	3,95	7,17
	α	-	0.01	0.001
II	t	-	4,31	6,82
	α		0.01	0.001
III	t	-	-	3,80
	α			0.01

Gesamt-Ketosteroide

Gruppe	t / α	II	III	IV
I	t	3,80	3,79	5,85
	α	0.01	0.01	0.001
II	t	-	7,44	9,08
	α		0.001	0.0001
III	t	-	-	3,14
	α			0.02

KGS/KS

Gruppe	t / α	II	III	IV
I	t	0,32	0,32	0,61
	α	-	-	-
II	t	-	0,63	0,99
	α		-	-
III	t	-	-	0,23
	α			-

PSC/GKS

Gruppe	t / α	II	III	IV
I	t	2,46	0,65	0,65
	α	0.05	-	-
II	t	-	2,43	2,26
	α		0.05	-
III	t	-	-	0,04
	α			-

Anmerkung: 17-KS = 17-Ketosteroide; KGS = ketogene Steroide; PSC = Porter-Silber-Chromogene; GKS = Gesamt-Ketosteroide

Tabelle 13 zeigt die Ergebnisse der SPEARMANschen Rangkorrelation. Wir prüften damit zeitlich gleichsinnige Veränderungen der untersuchten Parameter innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen.

Tabelle 13

Gruppe I (r; α)

		KGS	PSC	GKS	KGS/KS	PSC/GKS	TEMP.
17-KS	r	-0,46	-0,15	-0,19	-0,72	-0,26	-0,38
	α	-	-	-	0,05	-	-
KGS	r	-	0,70	-0,20	0,90	0,43	0,79
	α		-	-	0,05	-	0,05
PSC	r	-	-	0,60	0,46	0,52	0,36
	α			-	-	-	-
GKS	r	-	-	-	0,01	-0,36	0,36
	α				-	-	-
KGS/KS	r	-	-	-	-	0,23	0,43
	α					-	-
PSC/GKS	r	-	-	-	-	-	0,43
	α						-

Gruppe II (r; α)

		KGS	PSC	GKS	KGS/KS	PSC/GKS	TEMP.
17-KS	r	0,34	0,05	0,07	-0,18	-0,07	0,17
	α	-	-	-	-	-	-
KGS	r	-	0,61	0,50	0,85	0,12	-0,65
	α		-	-	0,01	-	-
PSC	r	-	-	0,57	0,55	0,48	0,33
	α			-	-	-	-
GKS	r	-	-	-	0,39	-0,43	0,02
	α				-	-	-
KGS/KS	r	-	-	-	-	0,22	-0,55
	α					-	-
PSC/KS	r	-	-	-	-	-	-0,33
	α						-

Gruppe III (r; α)

		KGS	PSC	GKS	KGS/KS	PSC/KS	TEMP.
17-KS	r	0,10	0,36	0,20	-0,58	-0,17	0,52
	α	-	-	-	-	-	-
KGS	r	-	0,43	-0,20	0,70	0,05	-0,37
	α		-	-	-	-	-
PSC	r	-	-	-0,02	0,05	0,52	-0,60
	α			-	-	-	-
GKS	r	-	-	-	-0,30	-0,79	0,12
	α				-	0,05	-
KGS/KS	r	-	-	-	-	0,12	-0,63
	α					-	-
PSC/KS	r	-	-	-	-	-	-0,51
	α						-

Gruppe IV (r; α)

		KGS	PSC	GKS	KGS/KS	PSC/KS	TEMP.
17-KS	r	0,43	-0,33	-0,15	-0,77	0,01	-0,32
	α	-	-	-	0,05	-	-
KGS	r	-	-0,41	-0,32	0,14	-0,01	0,23
	α		-	-	-	-	-
PSC	r	-	-	0,55	0,03	0,21	-0,09
	α			-	-	-	-
GKS	r	-	-	..	-0,13	-0,69	-0,02
	α				-	-	-
KGS/KS	r	-	-	-	-	0,12	0,56
	α					-	-
PSC/KS	r	-	-	-	-	-	-0,73
	α						-

Anmerkung: 17-KS = 17-Ketosteroide; KGS = ketogene Steroide; PSC = Porter-Silber-Chromogene; GKS = Gesamtketosteroide

4. DISKUSSION UND SCHLUSSFOLGERUNG

Die Absterberate (Tabelle 13) in unserem Experiment zeigt für die rein infizierten Tiere der Gruppe II eine St_{50} von 9,5 Tagen, d.h. in dieser Zeit war die Hälfte der Tiere an der gesetzten Infektion gestorben. Die Tiere der Gruppe I, die noch zusätzlich mit AS behandelt waren, überlebten das Experiment alle. Dies läßt den Schluß zu, daß die AS eine positive Wirkung auf den Infektionsverlauf ausübt. Von gleichen Ergebnissen berichtete J. R. MÖSE 1963 (22). Er konnte zeigen, daß mit AS behandelte Mäuse nach Pneumokokkeninfektion in hohem Prozentsatz zu völliger Ausheilung oder zu hoch signifikanten Überlebenszeiten gegenüber den Kontrollen kamen. Auch bei Infektionen mit Bakterium typhimurium konnte er diesen Effekt deutlich erreichen. Da die unspezifische Widerstandskraft nach METSCHNIKOFF (1902) und EHRICH (1956) über einen zellulären und einen humoralen Weg wirkt (74,75), d.h. also die zelluläre Abwehr durch Phagocytose eine entscheidende Rolle bei diesen Abwehrvorgängen spielt, könnte man bei der AS einen phagocytosesteigernden Effekt vermuten. Das bestätigte MÖSE an infizierten Wunden im Rattenversuch eindeutig (22,25). Auch Beobachtungen an Kaninchen ergaben eine eindeutige Steigerung der bakteriziden Serumwirkung höchst wahrscheinlich über eine Anregung des "Beta-Lysins" (25).

Auch konnte MÖSE bei seinen Versuchen mit AS keine zahlenmäßige Beeinflussung in Richtung Leukocytenabfall feststellen (22,26), der, nach SELYE (1950) und HOFF (1952), bei besonders starken Reizen wie z.B. Infektion oder anderen Stress-Situationen, zu einer gesetzmäßigen Reaktion des weißen Blutbildes beim unspezifischen Abwehrvorgang des Organismus gehört (77,78) und der bei Typhus und letaler septischer Infektion von CABOT und HOERING (1962) beschrieben wurde (79,80). Vielmehr spricht er von einer Steigerung der Phagocytoseaktivität der Leukocyten durch nachträgliche Stimulation. Ebenso stellt er fest, daß die Leukocyten durch Behandlung mit AS bei Infektionen in normalen Schwankungsbreiten bleiben (25). Die Aktivierung phagocytierender Zellen durch AS ist inzwischen klinisch bestätigt (34-43). Ähnliche Ergebnisse im Tierexperiment fanden auch NORPOTH und DEPPE 1965 (81). Sie zeigten, daß Tuberkulose-infizierte Meerschweinchen, die mit TARDOLYT (AS) behandelt wurden, eine deutliche Verlängerung der mittleren Überlebenszeit bei massiver Infektion mit virulenten Keimen erkennen ließen.

Aus dem Gesagten kann geschlossen werden, daß die AS bei Meerschweinchen, die mit Salmonella typhimurium

infiziert wurden, eine völlige Ausheilung bewirkt, die sich aus dem vorher beschriebenen Wirkungsmechanismus ergibt. Die Ergebnisse unserer Absterbekurve stimmen daher mit den bisherigen Arbeiten mit AS überein.

Nun stellt sich die Frage: Kann der durch die AS veränderte Infektionsverlauf auch an unseren Ergebnissen der Hormonuntersuchung in Blut und Urin, deren Ausscheidung nach HOFF, SELYE und ZIMMERMANN (44,78,82,50) bei der Infektion eine wichtige Rolle spielen, abgelesen werden? Bei der Ausscheidung der 17-KS im Urin zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Hormonmenge während des ganzen Versuchsablaufes bei Gruppe I und II gegenüber Gruppe III und IV. Dies ist vielleicht dadurch zu erklären, daß die Nebennierenrinde bei Belastung des Organismus die Ausscheidung der 17-KS bzw. der Corticoide erhöht. ZIMMERMANN, ANTON und ROMMEL berichten darüber (64). Die Gipfel der Kurve in den ersten 3 Tagen können durch die Stress-Situation, bei der es zu vermehrter ACTH-Stimulierung kommt (62,63), erklärt werden. Bei den Corticoiden im Urin zeigt sich im Kurvenverlauf bei der Gruppe I und II eine signifikant erhöhte Ausscheidung gegenüber der Gruppe III und IV. Die Erhöhung stimmt mit den Ergebnissen anderer Autoren überein (58,59,60,61,65). Da sowohl Gruppe I und II erhöhte Ausscheidung an 17-KS und Corticoiden

im Harn aufweisen, sich aber in der Sterberate völlig unterscheiden, könnte man vielleicht schließen, daß die AS keinen direkten Einfluß auf die innersekretorischen Abläufe nimmt. Denn nach ZIMMERMANN (1957) waren z.B. die Corticosteroide bei erniedrigter Resistenzlage erhöht. Diese Erhöhung der Corticosteroide wird aber bei unseren Ergebnissen der Gruppe I nur geringfügig "gebremst", obwohl die Überlebensrate darauf hindeuten sollte, daß sich auch die unspezifische Resistenz erhöht haben muß. Auch der Quotient zwischen katabolen und anabolen Hormonen, der im Sinne einer relativen Erhöhung der katabolen Hormonen die Schwere der Erkrankung widerspiegeln soll (47), gibt bei unseren Ergebnissen keine Auskunft über die Wirkung der AS auf die Steroidausscheidung. Es wurden bei allen vier Gruppen keine statistisch gesicherten Signifikanzen festgestellt, obwohl die Meßwerte des Quotienten der Gruppe I unter dem Wert 1, die der Gruppe II über 1 lagen, d.h., daß bei Gruppe I die anabolen über die katabolen Hormone relativ überwogen. Bei den freien Corticoiden im Blut ergaben sich nur signifikante Unterschiede zwischen den infizierten (Gruppe I und II) und den nicht infizierten Tieren (Gruppe III und IV). Daraus kann geschlossen werden, daß bei den infizierten Tieren die PSC-Ausscheidung erhöht ist. Eine Steigerung der PSC-Ausscheidung bei

infizierten Meerschweinchen wurde auch von anderen Autoren gefunden (57,59,60,61). Eine Wirkung der AS auf die PSC-Ausscheidung konnte in unserem Versuch nicht gezeigt werden. Bei den Meßwerten der Gesamt-KS im Plasma zeigten sich zwischen der Gruppe I und II statistisch gesicherte Unterschiede in der Hormonkonzentration und zwar lagen die Werte der Gruppe II signifikant höher, als die der Gruppe I. Vielleicht könnte diese relative Erniedrigung von Gruppe I zu Gruppe II auf eine verbesserte Resistenzlage der Gruppe I schließen lassen. Da man annehmen darf, daß die Resistenz der Tiere, die infiziert und mit AS behandelt waren, gestiegen war, was an Hand der Absterbekurven als bewiesen gelten kann und da bei unserem Experiment die 17-KS Ausscheidung im Plasma bei Gruppe I und II signifikant über die Kontrollgruppen III und IV erhöht war und da die natürliche Resistenz, wie es von ZIMMERMANN und anderen gezeigt wurde, der Ausscheidung der 17-KS parallel läuft (50,56,57), könnte man die Erhöhung der 17-KS der Gruppe I als eine Resistenzsteigerung ansehen, könnte aber die enorme Erhöhung der Gruppe II, also der nur infizierten Tiere, nicht mehr erklären. Da aber der Quotient der katabolen und anabolen Hormonen, der die funktionale Abhängigkeit der Hormone zum Ausdruck bringt (47,55, 56,57,84), aufschlußreicher ist über den Ausgang des Infektionsverlaufs und somit über die Schwere

der Erkrankung, ist es nun wichtig die gefundenen Meßwerte des Quotienten zu interpretieren. Der Quotient zeigt für Gruppe I und II, wie aus der t-Wert-Tabelle ersichtlich, einen signifikanten Unterschied auf einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0{,}05$, wobei der Quotient der Gruppe II höher liegt als derjenige der Gruppe I, d.h. daß einmal bei Gruppe II eine Dissoziation von Ketosteroiden zu Corticoiden stattfand, wobei ein Überwiegen der Corticoide, also der katabolen Hormone, gegenüber den anabolen Hormonen zu verzeichnen war, das ein Ansteigen des Quotienten > 1 zur Folge hatte, und daß zum zweiten die anabolen Hormone der Gruppe I relativ erhöht waren gegenüber den katabolen.

Von einigen Autoren wird eine resistenzsteigernde Wirkung der Keimdrüsenhormone nachgewiesen (53). So konnte ZIMMERMANN (1959) an mangelernährten Mäusen zeigen, daß durch Gabe von Testosteron die Resistenzminderung voll komponsiert wurde. Daraus läßt sich schlußfolgern, daß nach Gabe von AS das Überwiegen der katabolen Hormone zurückgedrängt wird, zu gunsten der anabolen, mit deren Erhöhung eine Resistenzsteigerung einhergeht. Offen bleibt die Frage, wie die AS direkt in den hormonalen Regelkreis oder den Eiweißhaushalt eingreift? Unsere Meßdaten der Körpertemperatur, die rektal gemessen wurde, zeigten deutliche Unterschiede

unter den einzelnen Gruppen. Die signifikante Temperaturerniedrigung von Gruppe I in bezug auf Gruppe II kann als Hinweis dafür gelten, daß die AS die Infektion nicht zum vollen Ausbruch kommen läßt. Auffällig war hier noch eine positive Korrelation zu den ketogenen Steroiden im Urin der Gruppe I, d.h. die Veränderung der Temperatur der Gruppe I gingen mit der KGS-Ausscheidung parallel.

Wie aus den Gewichtstabellen zu ersehen ist, kann man einen verständlichen Gewichtsverlust der Gruppe II konstatieren. Alle übrigen Gruppen konnten Gewichtszunahmen verzeichnen, was bei Gruppe I trotz Infektion auf eine gute allgemeine Konstitution schließen läßt.

5. ZUSAMMENFASSUNG

An bisherigen Arbeiten werden die infektionshemmende Wirkung der Aristolochiasäure (AS) und die hormonalen Veränderungen beim Infektionsverlauf dargestellt. In einem 4-Gruppenexperiment (1 Hauptversuch- und 3 Kontrollen) kann gezeigt werden, daß die AS den tödlichen Verlauf einer Infektion mit Salmonella typhimurium verhindert. Alle mit AS behandelten infizierten Tiere überlebten die mittlere Lebensdauer (9,5 Tage) der nur infizierten Tiere.
Die Untersuchungen der 17-Ketosteroide und ketogenen Steroide im Harn, der Gesamt-Ketosteroide und der freien Corticoide im Blut zeigten teilweise einen parallelen Verlauf der Infektion der Gruppe I und II an im Verhältnis zur Kontrollgruppe IV (KGS, KGS/17-KS), teilweise signifikante Unterschiede zwischen Gruppe I und Gruppe II (17-KS, GKS, PSC, PSC/GKS, Temperatur). Das Verhältnis der katabolen Hormone zu den anabolen im Blut bestätigt, daß die Verschiebung der anabolen zu gunsten der katabolen in der nur infizierten Gruppe II die Infektion anzeigt, wie von ZIMMERMANN (47) vorausgesagt. Der signifikant kleinere Wert des Quotienten der Gruppe I deutet auf die Gesundung der Tiere hin. AS verhinderte auch den Gewichtsverlust und die Temperaturerhöhung,

die die Schwere der Infektion bei den nur infizierten Tiere mitanzeigte.

Die Ergebnisse wurden diskutiert im Rahmen der bisherigen Arbeiten mit AS und unter Berücksichtigung der Veränderungen im Hormonhaushalt bei Infektion.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. ORZECHOWSKI, G.: Aristolochia clematitis
   Erfahrungsheilkunde Bd. XIII, 6, (1964)

2. ORZECHOWSKI, G.: Eine alte Droge im neuen Gewand
   Z. f. Ther. 4, (1964), 229-232

3. PARACELSUS: Sämtliche Werke
   Bd. 1, 530, Bd. 3, 412

4. MEZGER, J.: Gesichtete Homöopathische Arzneimittellehre
   2. Aufl. Salgau 1951, 97 u. 99, 3. Aufl. Ulm/Donau 1964, 210

5. PAILER, M. u. Mitarb.: Zur Konstitution der Aristolochiasäure
   Mh. Chem. 86, (1955), 676-680

6. PAILER, M. u. Mitarb.: Pflanzliche Naturstoffe mit einer Nitro-Gruppe. Die Konstitution der Aristolochiasäure
   Angew. Chem. 78, (1956), 386

7. PAILER, M. u. Mitarb.: Pflanzliche Naturstoffe mit einer Nitrogruppe I. Die Konstitution der Aristolochiasäure
   Mh. Chem. 87, (1956), 249-268

8. PAILER, M. u. SCHLEPPNIK, A.: Pflanzliche Naturstoffe mit einer Nitrogruppe II. Die Konstitution der Aristolochiasäure-II
   Mh. Chem. 88, (1957), 367-387

9. PILARCZYK, W.: Aristolochia Clematitis L., die Osterluzei
   Planta Med. 6, (1958), 258-299

10. PILARCZYK, W.: Die Geschichte der Aristolochia clematitis
    Planta Med. 7, (1959), 73-91

11. PLINIUS, C. SEC.: Übers. v. G.CH. WITTSTEIN, Leipzig 1881

12. CHEVALLIER, A.J.: Analyse chimique de la serpentaire de Virginie (aristolochia serpentaria). Pharm. Chem. 6, (1820), 565

13. BRANDES, R.: Aristolochiaceae
Buchners Rep. Pharmac. 50, (1835), 365

14. WITTSTEIN, G.CH.: Beschreibung und chemische Untersuchung der Radix Aristolochiae anti-hysterical
Buchners Rep. Pharmac. (2. Reihe) 57, (1836), 145

15. WINCKLER, F.L.: Über einige Bestandteile der Rad. Aristolochiae longae vulgaris (Aristolochia Clematitis L.)
Jahrb. prakt. Pharmac. 19, (1849), 71

16. WALZ, G.F.: Beitrag zur Kenntniss der chemischen Zusammensetzung der Aristolochieen, insbesondere die Untersuchung der Aristolochia clematitis
Jahrb. Pharmac. 24, (1852), 62-72; 26, (1853), 65-76

17. POHL, J.: Über das Aristolochin, einen giftigen Bestandteil der Aristolochia-Arten
Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 29, (1892), 282

18. HESSE, O.: Über die Wurzel von Aristolochia argentina
Arch. Pharmac. 233, (1895), 684-697

19. KRISHNASWAMY, P.R. u. Mitarb.: Chemical Examination of the Roots of Aristolochia Indica, Linn. Part I
J. Indian Chem. Soc. 12, (1935), 476
Chemical Examination of the Roots of Aristolochia Indica, Linn. Part III. Isolation of the Alkaloid Aristolochine
J. Indian Chem. Soc. 14, (1937), 39

20. ROSENMUND,H. u. REICHSTEIN, T.: Zur Kenntnis der Aristolochiasäure
Pharm. Acta Helvetiae 18, (1943), 243-261

21. GÄNSHIRT, H.: Untersuchungen über die Sekretzellen, den Aristolochiasäuregehalt und die wasserdampfflüchtigen Bestandteile einiger Aristolochia-Arten
Inaug.-Diss. Karlsruhe 1953

22. MÖSE, J.R.: Versuche über die Wirksamkeit von Aristolochiasäure
Planta med. 11, (1963), 72

23. MÖSE, J.R. u. LUKAS, G.: Experiments on the mechanism of action of Aristolochia clematitis L.
Arzneim.-Forsch. 11, (1961), 33-36

24. MÖSE, J.R.: Beeinflussung der Infektionsabwehr durch Aristolochiasäure
Langenbecks Arch. f. klin. Chir. Bd. 304, (1963), 887-888

25. MÖSE, J.R.: Weitere Untersuchungen über die Wirkung der Aristolochia-Säure
Arzneim.-Forsch. 16, (1966), 118-122

26. WAGNER, K.: Grundlagen und Grundbegriffe der Allergielehre
Monatsh. Veterinärmed. 8, (1953), 291

27. ORZECHOWSKI, G.: Aristolochiasäure
Phys. Med. Reh. 12, (1969), 311-316

28. KOVAC, W. u. RUDAS, B.: Experimentell-histologische Untersuchungen über die Dynamik des Granulationsgewebes
Virchows Arch. path. Anat. 33, (1960), 81

29. ORZECHOWSKI, G.: Die Bedeutung der parenteralen Verdauung und der phagocytierenden Blutzellen für die Abheilung von Entzündung und Verletzung
Medizin u. Ernähr. 5, (1964), 247-252

30. ORZECHOWSKI, G.: Venen und Antiödemtherapie in der Praxis
Erfahrungsheilkunde Bd. XVI, 7, (1967)

31. ORZECHOWSKI, G.: Gezielte Beeinflussung der Entzündungsabwehr
Med. Mschr. 17, (1963), 572-577

32. JURCZOK, F.: Die Anwendung der Aristolochiasäure bei Wöchnerinnen
Med. Welt (1969), 2491-2493

33. MAUL, H.: Verbesserte Wundheilung und Thromboseprophylaxe nach gynäkologischen und geburtshilflichen Operationen
Med. Welt 17 (N.F.), (1966), 670-672

34. HARTMANN, E.: Zur konservativen Behandlung gynäkologischer Erkrankungen
Ärztl. Prax. XIX, 85, (1967), 3077

35. MOSER, H.: Klinische Erfahrung mit der Aristolochiasäure bei bisher therapieresistenten langdauernden Eiterungen
Langenbecks Arch. f. klin. Chir., Bd. 303, (1963)

36. JUMMEL, F.: Über die Wirksamkeit der Aristolochiasäure bei chronisch entzündlichen Gewebsprozessen
Ther. d. Gegenw. 103, (1964), 1020-1022

37. OHM, H.J.: Untersuchungen zur Frage der Anwendungsmöglichkeit der Aristolochiasäure bei chronischen Entzündungsprozessen im Kieferbereich
DDZ 22, (1968), 68-72

38. REINERS, O.: Die Anwendung der Aristolochiasäure in der allgemeinen Chirurgie
Medizin heute 14, (1965), 165-166

39. ULRRICH, E.: Ein Beitrag zur Behandlung chronischer und frischer Eiterungen
Der Chirurg 36, (1965), 534-535

40. BAETGEN, D.: Behandlung der rezidivierenden Angina im Kindesalter
Med. Mschr. 20, (1966), 474-476

41. HEILMANN, M.: Steigerung der natürlichen Abwehr in der praktischen HNO-Therapie
Der Landarzt 44, (1968), 445-456

42. LEITL, K.: Dermatologische Indikationen der Aristolochiasäure
Zschr. f. Haut- u. Geschlechtskr. 39, (1965), 322-327

43. HEESEN, W.: Tuberkulosetherapie und körpereigene Abwehr
Erfahrungsh. 17, (1968)

44. HOFF, F.: Fieber, unspezifische Abwehrvorgänge, unspezifische Therapie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1957

45. BIELING, R.: Die biologische Infektionsabwehr
2. Aufl., Deuticke 1948

46. BIELING, R.: Resistenz und Immunität
Handb. Allg. Path. VII, (1956)

47. ZIMMERMANN, W., BRÜHL, P.: Die Rolle der Steroidhormone im Infektionsverlauf
Zschr. f. Hyg. 149, (1963), 194-205

48. ZIMMERMANN, W.: Grundlagen und Möglichkeiten der Infektabwehr
Ärztl. Forschg. 14, (1960), 427-437

49. TONUTTI, E.: Physiologische Anpassungsreaktion und toxische Läsion des Rindenorgans durch Diphtherietoxin
Med. Welt (1951), 408

50. ZIMMERMANN, W.: Die Infektionsresistenz in endokrinologischer Sicht. Die 17-KS-Ausscheidung als ihr Gradmesser
Zbl. Bakt. I Orig. 167, (1956), 140

51. ZIMMERMANN, W.: Infektion, Resistenz und Hormone
Arzneim.-forsch. 5, (1955), 493-494

52. MÜNIF YEGIN, M.: Versuche über die Infektionsresistenz von Tieren und ihre Beziehung zur 17-KS-Ausscheidung
Inaug.-Diss. Giessen 1958

53. ZIMMERMANN, W.: Natürliche Resistenz und Tbc
Med. Mschr. 2, (1959), 103-109

54. BRÜHL, P., KAISER, E., OERTEL, G.W., ZIMMERMANN, W.: Infektion und Plasma-17-Ketosteroide
Klin. Wschr. 40, (1962), 600-601

55. ZIMMERMANN, W., BRÜHL, P., KAISER, E., OERTEL, G.W.: Unspezifische Abwehrvorgänge in hormonchemischer Sicht
Z. f. Immunitätsf. u. experim. Ther. 123, (1962)

56. KAISER, E., BRÜHL, P., OERTEL, G.W.: Plasmasteroide und Tbc, II. Plasma-17-Ketosteroide und regulatorischer Einfluß von Milzextrakt bei experimenteller Meerschweinchen-Tbc
Acta Hepato-Splenologica 10, (1963), 46-49

57. ZIMMERMANN, W., KAISER, E., BRÜHL, P., OERTEL, G.W.: Infektion und Steroide
Z. f. Immunitäts- u. Allergieforsch. 128, (1965), 298-304

58. DIEHL, K., NITSCH, W., RINDT, W., ZIMMERMANN, W.: Die Manifestation der Tbc und der Steroidspiegel
Z. f. d. ges. exp. Med. 140, (1966), 158-169

59. LÜBKE, P., RINDT, W., ZIMMERMANN, W.: Einfluß von Tuscheblockade auf Infektionsresistenz, Blutbild und Steroide beim Meerschweinchen
Zbl. f. Bakt. I Orig. 204, (1967), 417-426

60. NENNINGER, M.: Einfluß von Östradiol auf die Infektionsresistenz bei experimenteller Meerschweinchen-Salmonellose, ein Beitrag zur Frage der unspezifischen Resistenz
Inaug.-Diss. Saarbrücken 1970

61. LIPPELT, L.: Einfluß von Kohlehydraten auf Infektionsanfälligkeit, Steroidhaushalt und Blutbild beim Meerschweinchen
Inaug.-Diss. Homburg 1970

62. SELYE, H.: Einführung in die Lehre von Adaptionssyndrom
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1953

63. DORFMAN, R.J.: Special aspects of adrenocortical-steroid metabolism
Ann. N. Y. Acad. Sci. 61, (1955), 291

64. ZIMMERMANN, W., ANTON, H.V., ROMMEL, K.H.: Hormonbestimmungen bei Infektionskrankheiten
Zbl. Bakt. I Orig. 158, (1952), 6

65. ZIMMERMANN, W.: Infektion, Infektionskrankheit und Infektionsresistenz als biochemische Probleme
Dtsch. med. Wschr. 82, (1957), 853-855

66. DUMAS, J.: Les animaux de laboratoire Editions medicales Flammarion, Paris 1953

67. Beiheft der Firma URSAPHARM Sl-Arzneimittel GmbH Saarbrücken

68. NORYMBERSKI, K., STUBBS, R.D., WEST, H.F.: Assessment of adrenocortical activity by assay of 17-Ketogenic steroids in urine
Lancet 1, (1953), 1276

69. PORTER, C.C., SILBER, R.H.: A quantitative color reaction for cortisone and related 17, 21 dihydroxy-20-ketosteroids
J. biol. Chem. 185, (1950), 201

70. ZIMMERMANN, W.: Chemische Bestimmungsmethoden von Steroidhormonen in Körperflüssigkeiten
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955

71. OERTEL, G.W., KAISER, E.: Determination of dehydroepiandrosterone, androsterone, etiocholanolone and 11-β-Hydroxy-etiocholonolone in plasma
Clin. Chim. Acta 7, (1962), 221

72. FISHER, R.A., YATES, E.: Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research
Tabelle III, Edinburgh, (1963), 46

73. DOCUMENTA Geigy: Wissenschaftliche Tabellen
Basel, 6. Aufl., (1960)

74. METSCHNIKOFF, E.: Immunität bei Infektionskrankheiten
Fischer, Jena 1902

75. EHRICH, W.E.: Hdb. allg. Path.VII/1
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956, S. 1

76. EHRICH, W.E.: Dynamik der Reizbeantwortung
Verhandl. d. dtsch. ges. inn. Med. 62, Kongr. Bergmann München, (1956), 163

77. HOFF, F.: Klinische Probleme der vegetativen Regulation und der Neuralpathologie
Dtsch. med. Wschr. (1952), 65, 112, 146

78. SELYE, H.: Stress and the general adaptation Syndrom
Brit. Med. J. (1950), 1383

79. CABOT: Zit. nach SCHMECHEL, A. und LEHFELD, H.: Blutbild und Retikuloendothelialsystem bei der Streptokokkeninfektion
Z. ges. exp. Med. 55, (1927), 731

80. HOERING, F.C.: Klinische Infektionslehre 3
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962

81. HORPOTH, K., DEPPE, H.D.: Wirkung der 3,4-Methylendioxy-8-methoxy-10-nitrophenantren-carbonsäure-1 (Aristolociasäure) und des Omnadin auf Mykobakterien in vivo
Zschr. Hyg. 151, (1965), 55

82. SELYE, H.: Stress, Montreal (1950)

83. LÜBKE, P.M.: Versuche zur Errichtung eines Modells zum Studium der natürlichen Resistenz gegen Infektionskrankheiten. Blockadeversuch mit Tusche
Med. Diss. Homburg 1966

84. ZIMMERMANN, W., SCHROEDER, C., HEESEN, W.: Der Verlauf der kindlichen Tbc im Spiegel der Steroidausscheidung
Beitr. klin. Tbc 118, (1958), 193

Herrn Professor Dr. med., Dr. phil., Dipl.Chem. W. ZIMMERMANN danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die mir zuteilgewordene Unterstützung. Sie bezog sich nicht nur auf die sachliche Beratung bei der Vorbereitung und Durchführung der Experimente, sondern auch auf die Verbesserungsvorschläge bei der Durchsicht der Arbeit.

Dem Rechenzentrum Homburg und Herrn Dr. med. Rurainski bin ich für die hilfreiche Unterstützung bei der Auswertung der chemischen Analysendaten zu Dank verpflichtet.

Der Firma MERCK, Darmstadt, danke ich für die kostenlose Überlassung des Salmonellenstammes S.typhimurium S 7 in lyophilisiertem Zustand, ebenso der Firma CHEMIEPHARM, Saarbrücken, die mir 10 g Aristolochiasäure kostenlos zur Verfügung stellte.

Lebenslauf

Am 16. Dezember 1946 wurde ich als Sohn des prakt. Arztes Dr. med. Gustav Konrad und seiner Ehefrau Irmingard Konrad geb. Siegert in Homburg/Saar geboren. Seit November 1968 bin ich mit Marianne Konrad geb. Georg verheiratet.

Von 1953 bis 1957 besuchte ich die Grundschule in Homburg-Erbach. Anschließend besuchte ich 9 Jahre lang das Staatliche Realgymnasium in Homburg, wo ich im Herbst 1966 die Reifeprüfung ablegte.
Im Wintersemester 1966 begann ich an der Universität des Saarlandes mit dem Studium der Zahnheilkunde, bestand im Wintersemester 1968 das Vorphysikum und nach weiteren 4 Semestern im Februar 1970 das Physikum. Nach 5 klinischen Semestern an der Zahnmedizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar, legte ich im November 1972 das Staatsexamen ab.